不同松树种间杂交类型的可育性分析

孙明升[1]，冯源恒[2]，贾婕[2]，杨章旗[1,2,3,4*]

（1. 广西大学林学院，南宁 530000；2. 广西壮族自治区林业科学研究院，南宁 530002；3. 广西马尾松工程技术研究中心，南宁 530002；4.国家林业和草原局中南速生材繁育实验室，南宁 530002）

摘 要：探究不同松树种间杂交可育性，为松树种间杂交育种亲本选配提供依据，进而为松树的杂种优势研究积累材料 。本研究利用随机区组设计，通过 92 个松树种间杂交组合与 20 个半同胞对照，分析 9 种松树种间杂交类型子代的平均球果产种数，平均球果产种量，百粒重，发芽率与成苗率 5 项育性指标，综合球果、种子与苗期三方面的表现，利用模糊数学隶属函数法对不同松树种间杂交类型进行可育性综合评价。分析得出：加勒比松×湿地松（C×E）、湿地松×加勒比松（E×C）与湿地松×火炬松（E×T）三种杂交类型育性表现优于或接近相应的半同胞对照，马尾松×湿地松（M×E）、马尾松×火炬松（M×T）、马尾松×加勒比松（M×C）、火炬松×加勒比松（T×C）、火炬松×马尾松（T×M）与火炬松×湿地松（T×E）杂交类型育性表现远低于半同胞对照，表现出低育性甚至不育。综合 5 项育性指标，亚组内杂交育性的整体表现明显优于亚组间杂交；湿地松与加勒比松为母本的三种杂交组合育性表现总体水平明显优于马尾松与火炬松为母本的另外六种杂交组合。9 种杂交类型中除了火炬松×湿地松（T×E）外，均获得了具有生活力的杂交子代，尤其马尾松与 3 种国外松的杂交子代在相关研究中是首次获得，对松树种间杂交育种的研究具有重要意义。

关键词：杂交松，种实性状，可育性，种间杂交，综合评价

中图分类号：Q321+.2　　　　文献标识码：A

开放科学（资源服务）标识码（OSID）：



Analysis on the fertility of different interspecific hybrid types of pines

SUN Mingsheng [1], FENG Yuanheng [2], JIA Jie [2], YANG Zhangqi [1, 2, 3, 4*]

（1. *College of Forestry in Guangxi University*, Nanning 530004, China; 2. *Guangxi Forestry Research Institute Guangxi*, Nanning 530002, China; 3. *Masson Pine Engineering Technology Research Center of Guangxi*, Nanning 530002, China; 4. *Key Laboratory of Central South Fast-growing Timber Breeding of State Forestry and Grassland Administration,* Nanning 530002, China）

收稿日期：2019-12-14

基金项目：八桂学者专项； 广西科技计划项目（桂科 AD16380010）[Supported by Bagui Scholar Special Project；Guangxi Science and Technology Plan Project(guike AD16380010)] 。

作者简介：孙明升(1994 -)，男，山东高密人，在读硕士，主要从事林木遗传育种研究，(E-mail）1005142606@qq.com。

***通信作者：**杨章旗，博士，教授级高级工程师，主要从事林木遗传育种研究，(E-mail）yangzhangqi@163.com。

Abstract: The aim of this study was to explore the fertility of interspecific hybridization of different pines, to provide basis for parents selection of interspecific hybrid breeding of pines, and to accumulate materials for the study of heterosis of pines. In this study, by using randomized block design, average number of seed production, average weight of seed production, 100-seed weight, germination rate and seedling rate of the progenies of 9 interspecific hybrid types of pine trees were analyzed by 92 interspecific hybrid combinations and 20 half-sib controls. The performance of the progenies in cone, seed and seedling stage was analyzed comprehensively. Comprehensive evaluation of the fertility of cross types of different pine species was done by using the fuzzy mathematical membership function. The results showed that the three hybrid types of *Pinus caribaea* ×*Pinus elliottii*（C × E）, *Pinus elliottii* ×*Pinus caribaea* （E × C）and *Pinus elliottii* ×*Pinus taeda*（E × T） were better than or close to half sib control, and *Pinus massoniana* ×*Pinus elliottii*（M × E）, *Pinus massoniana* ×*Pinus taeda*（M × T）, *Pinus massoniana* ×*Pinus caribaea*（M × C）, *Pinus taeda* ×*Pinus caribaea*（T × C）, *Pinus taeda* × *Pinus massoniana*（T × M）and *Pinus taeda* ×*Pinus elliottii*（T × E）were much lower than those of the half-sib controls. According to the 5 fertility indexes, The overall performance of hybridization in the subgroup was better than that of intersubgroup hybridization, and that of the 3 hybrids of *Pinus elliottii* and *Pinus caribaea* as female parent was better than that of the other 6 hybrids of *Pinus massoniana* and *Pinus taeda* as female parent. In addition to *Pinus taeda* ×*Pinus elliottii*（T × E）, the living hybrid offspring were obtained in all the 9 hybrids. Especially the living hybrid offspring of *Pinus massoniana* and 3 kinds of foreign pines were obtained for the first time in relevant studies. It is of great significance to the study of interspecific hybridization breeding of pine trees.

Keywords: hybrid pine， fruit and seed phenotypic traits， fertility， interspecific hybridization， comprehensive appraisal

通过松树种间杂交综合利用现有种质和远缘种质的优良性状拓宽种内遗传资源、扩大基因库、弥补近缘杂交的局限性是种质创新的重要途径（栾启福等，2011）。林业上杂交育种实例多为远缘杂交，通过远缘杂交来获得杂种优势是林木遗传改良的常用方法。马尾松（*Pinus massoniana*）是我国亚热带地区分布最广的森林树种，也是荒山造林的先锋树种（冯源恒等，2019）；火炬松（*Pinus taeda*）具有优良材性，已成为我国南方集体林区短周期造纸材和建筑用材的主要栽培树种之一（徐有明等，2005）；湿地松（*Pinus elliottii*）具有生长快、材质好、产脂高和适应性强等优点，是美国的主要造林树种之一（南方松种源试验协作小组，1985）；加勒比松（*Pinus caribaea*）生长快、适应性强、耐瘠薄土壤，是南亚热带低海拔丘陵地区造林绿化的主要树种之一（曾小平等，1999）。随着松树育种工作的深入和人们对育种目标的不断提高，种内遗传变异的幅度往往不能满足人们的育种需求，通过远缘杂交打破种间杂交障碍，使优良基因在种间充分流动，培育兼具不同物种优良特性的新种质，具有广阔的前景和重要的应用价值（Cheng et al.，2011）。

然而，与正常杂交结实相比，从花粉萌发、生长到果实成熟及杂交子代的生长、发育，松树种间杂交都可能会面临一些困难。因此，探究不同松树种间杂交类型的可育性成为高效选配杂交亲本的重要前提。为全面分析不同松树种间杂交类型可育性，本研究从种间杂交子代的果实、种子与苗期三阶段，比较全面地探究种间杂交松可育性，为松树种间杂交育种亲本选配提供依据。探讨种间杂交松在果实、种子与苗期性状上的优势表现，为松树种间杂种优势研究积累材料 。

1 材料与方法

1.1 试验材料

广西壮族自治区林业科学研究院于 2016 年与 2017 年在南宁市林业科学研究所(23° 10′ N，108° 00′ E）进行松树种间杂交试验得到的球果。杂交组合共 92 个（表 1），其中马尾松×湿地松（M×E）7 个；马尾松×火炬松（M×T）11 个；马尾松×加勒比松（M×C）5 个；火炬松×加勒比松（T×C）4 个；火炬松×湿地松（T×E）7 个；火炬松×马尾松（T×M）6 个；湿地松×火炬松（E×T）27 个；湿地松×加勒比松（E×C）20 个；加勒比松×湿地松（C×E）5 个。同时设置马尾松、湿地松、加勒比松与火炬松各 5 个半同胞对照（表 2）。

表 1 试验中 92 个交配组合

Tab 1 92 mating combinations in experiment

杂交类型 Mating type	交配组合（母×父） Mating combinations(female×male)				
马尾松×火炬松	M55×303E	M85×308E	TM66×311E	TM49×302E	TM51×311E
P. massoniana×P. taeda	TM20×302E	TM49×311E	TM18×302E	TM44×311E	TM127×302E
	TM103×302E				
火炬松×马尾松	303E×824D	303E×007B	303E×210D	65E×824D	65E×007B
P. taeda×P. massoniana	305E×210D				
湿地松×火炬松	S14×307E	S14×308E	S5×303E	S5×304E	S5×308E
P. elliottii ×P. taeda	S10×65E	S10×68E	S18×307E	S18×308E	S13×307E
	S13×308E	S6×303E	S6×304E	S6×308E	S12×65E
	S12×68E	S8×303E	S8×304E	S8×308E	S2×307E
	S15×65E	S15×68E	S10×303E	S10×304E	S10×308E
	S16×65E	S16×68E			
火炬松×湿地松	304E×S2	304E×S9	310E×S17	310E×369E	303E×S2
P. taeda×P. elliottii	303E×S9	304E×S17			
湿地松×加勒比松	S14×340E	S14×792E	S6×II-51	S6×IV-27	S10×700E
P. elliottii×P. caribaea	S10×HH3-25E	S10×790E	S10×791E	S5×357E	S13×340E
	S13×792E	S4×II-30	S4×I-17	S6×357E	S18×340E
	S18×792E	S8×357E	S2×340E	S2×792E	S10×357E
加勒比松×湿地松	II-51×S6	IV-27×S6	II-30×S4	I-17×S4	II-52×S4
P. caribaea×P. elliottii					
马尾松×湿地松	M59×S11	M59×788E	TM14×S16	TM127×S16	TM103×S16
P. massoniana×P. elliottii	TM74×S16	TM41×S16			
马尾松×加勒比松	M59×340E	TM70×348E	TM29×348E	TM74×348E	TM48×348E
P. massoniana×P. caribaea					
火炬松×加勒比松	304E×346E	303E×346E	306E×346E	65E×346E	
P. taeda×P. caribaea					

表 2 试验中的半同胞对照

Tab 2 Half-sib contrast in experiment

对照类型 Mating type	编号 Number				
马尾松 *P. massoniana*	TM44	TM49	TM51	TM55	TM66

湿地松 *P. elliottii*	S6	S8	S10	S12	S14
加勒比松 *P. caribaea*	340E	357E	790E	791E	792E
火炬松 *P. taeda*	303E	304E	305E	306E	310E

1.2 方法

1.2.1 种实性状测定

对收集回来的杂交球果进行常规观察与测量，统计每个杂交子代号其球果的总数量和总重量；之后分类整理，取得种子后，每个杂交子代号随机选取 100 粒种子称重，重复五次，统计百粒重与总重。

1.2.2 育苗试验

2018 年 10 月在广西壮族自治区马尾松工程技术研究中心（22° 55′ N，108° 20′ E）播种，苗床宽 0.6 m，条状播种，条宽 20 cm，条与条之间用木板隔离。所有种子采收后均经过手工初步筛选，每个组合随机数 100 粒种子，重复 4 次（400 粒），然后将这 4 个重复的种子按照随机区组的方法（一列小区）播种在以黄心土为主要基质的普通苗床中，稻草覆盖，浇水，遮荫网遮荫保湿，待种子基本萌发、地上部分长约 3 cm 左右揭去覆盖稻草，观察并统计发芽率，移苗后继续遮荫浇水，调查最后移出的每个小区保留苗木的数量计算成苗率。

1.2.3 指标选取

（1）平均球果产种数：每个杂交组合子代种子总数量与球果总数量的比值
（2）平均球果产种量：每个杂交组合子代种子总重量与球果总重量的比值
（3）百粒重：每个组合随机挑选的 100 粒子代种子的重量
（4）发芽率=正常发芽种子总数/供试种子数×100%
（5）成苗率=正常成苗种子总数/供试种子数×100%

平均球果产种数一定程度上体现出松树种间杂交两亲本交配是否亲和；平均球果产种量是反映生殖适应性的重要指标（毛建丰等，2007）；百粒重是体现种子大小与充实程度的一项指标；种子发芽率是评价林木种子质量的重要指标，是种子分级和定价的主要依据，在种子生产和经营中有着重要意义，在育苗调种前通常需要检测种子的发芽率（颜启传，2001）；成苗率的高低可以综合地体现出不同松树种间的杂交亲和性以及对外界条件的自身适应性。

1.2.4 统计分析方法

用 Excel 2007 软件对数据进行处理，用 SPSS 23.0 软件的 GLM 模块对不同组间与种间杂交类型相关育性指标数据进行方差分析，用 LSD 法多重比较分析不同组间与种间水平之间各个育性指标的差异显著性。以 $y_{ijkl}=u+T_i+C_{(i)j}+B_{(ij)k}+\varepsilon_{ijkl}$ 为线性模型对 9 种不同松树种间杂交子代的平均球果产种数，平均球果产种量，百粒重，发芽率与成苗率 5 项育性指标进行杂交类型间、杂交组合间的系统分组设计方差分析。y_{ijkl} 表示来自第 i 个杂交类型、第 j 个杂交组合在第 k 个区组第 l 个个体性状值；u 表示总体平均值；T_i 表示杂交类型效应；$C_{(i)j}$ 为杂交组合效应；$B_{(ij)k}$ 为区组效应；ε_{ijkl} 为随机误差。

利用单一育性指标评价松树种间杂交育性水平的局限性很大，尚缺乏可用来鉴定不同松树种间杂交类型育性水平的综合评价体系。为全面、客观、准确地评价不同松树种间杂交类型的育性水平，需根据多个性状综合评价（王贺正，2007；李贵全等，2007）。隶属函数值法客观合理，克服了单一性状指标评价的局限性，基于多项指标测定的基础上，采用隶属函数综合评价的方法能提高评价的准确性（张智猛等，2011）。本文利用隶属函数值综合评估的方法，综合评价了 9 种不同松树种间杂交类型的育性水平。隶属函数法计算公式为：$U(X_i)=(X_i-X_{min})/(X_{max}-X_{min})$，$i$=1、2、3、…、n。式中，$X_i$ 指的是某一指标的测定值，X_{max} 与 X_{min} 分别指的是该对应育性指标的最大值与最小值。

2 结果与分析

2.1 不同松树亚组杂交可育性指标分析

在 Price（1998）提出的松属内种的分类中，加勒比松、湿地松与火炬松同属一个亚组（*Australes*），马尾松属另一个亚组（*Pinus*）。在本试验中，M×E、M×T、M×C 与 T×M 为 A 组（亚组间杂交），T×C、T×E、E×T、E×C 与 C×E 为 B 组（亚组内杂交）。综合 5 项指标，亚组内杂交的育性表现明显优于亚组间杂交（表 3）。对亚组间杂交与亚组内杂交相关育性指标进行方差分析，平均球果产种数，平均球果产种量，百粒重，发芽率与成苗率均有极显著差异（表 4），说明在不同松树种间杂交中，亲本亲缘关系的远近会使亲本配合力有很大差别，杂交子代在球果，种子，苗期的生长表现存在很大差异。从变异幅度上看，除了百粒重，B 组其余四项指标的极大值均显著大于 A 组，一定程度上说明松树种间杂交亲本亲缘关系的远近通过影响亲本配合力进一步影响杂交子代在球果、种子与苗期三个阶段杂种优势的产生与表现。

表 3 不同亚组杂交类型可育性指标均值与变异幅度

Tab 3 Mean and amplitude of variation of each indicator of different subgroups

种子类型 Type of seed	平均球果产种数与变幅 Average number of seed production(ANSP) and amplitude of variation(粒/个)	平均球果产种量与变幅 Average weight of seed production(AWSP) and amplitude of variation($g\cdot kg^{-1}$)	百粒重与变幅 100-seed weight(SW) and amplitude of variation(g)	发芽率与变幅 Germination rate(GR) and amplitude of variation(%)	成苗率与变幅 Seedling rate(SR) and amplitude of variation(%)
A 组 Group A	2.5(0～11.8)	2.66(0～29.05)	1.45(0.45～5.78)	4.85%(0～49.33%)	3.80%(0～40.91%)
B 组 Group B	22.72(0～103.4)	14.6(0～71.93)	2.12(0.94～4.03)	8.07%(0～89.33%)	14.7%(0～87.2%)

表 4 不同亚组杂交类型方差分析

Tab 4 Analysis of variance of different subgroups of interspecific hybridization

性状指标 Trait index	均值 Mean	平方和 Sun of squares	自由度 DF	均方值 Mean square	*F*	显著性 Significance
ANSP	20.13	12670.08	1	12670.08	30.11	0.000
AWSP	14.11	4988.30	1	4988.30	28.25	0.000
SW	2.29	42.66	1	42.66	58.13	0.000
GR	0.17	1.67	1	1.67	37.07	0.000
SR	0.14	0.38	1	0.38	11.17	0.001

2.2 不同松树种间杂交类型可育性指标分析

从表 5 可知，9 种杂交类型中除了 T×E 外，均获得了具有生活力的杂交子代。C×E 的平均球果产种数最高，平均每颗球果可以产种 59.7 粒，T×E 平均球果产种数最低，T×E 产种数为 0 的组合数占总组合数 50.0%，受精前不亲和或者是染色体配对障碍是造成这种现象的主要原因；C×E 的平均球果产种量最高，平均每千克球果可以产种 34.29 g，T×E 的平均球果产种量最低，平均每千克球果产种仅 1.37 g；T×M 的百粒重平均值最高，达 2.73 g，

M×E 的百粒重平均值最低，仅 0.66 g。在其他松树种间杂交子代中，E×T、E×C 与 T×E 紧随其后，均大于 2.00 g，T×C、M×C 与 C×E 依次递减，百粒重平均值在 1.00 g 到 2.00 g 之间，M×T 的百粒重平均值仅为 0.84 g。可能是因为杂交不亲和性等原因，M×C、E×T、E×C 与 T×M 种子的发育参差不齐，种子大小差异很大，种子百粒重变异幅度也较大。M×C 与 E×T 中个别杂交组合平均球果产种数、平均球果产种量与百粒重的最大值远大于相应半同胞对照三个指标的最大值，原因可能是种间杂交杂种优势在种实阶段的初步表现。

在所有种间杂交类型中，C×E 种子的平均发芽率最高，达 38.99%，平均发芽率最低的是 T×E，14 个杂交组合的平均发芽率均为 0，主要原因可能是火炬松作母本与湿地松受精后杂种胚败育及不育，进而导致胚、胚乳和子房组织在发育时不能进行有效协调，尤其是胚乳发育不正常所造成的胚营养物质缺乏，进而阻碍其正常的生长发育。在其他几种松树种间杂交组合中，E×C 与 E×T 的平均发芽率为 28.71%和 15.39%，M×E、M×T、M×C、T×C、T×M 杂交子代的平均发芽率均小于 10.00%；C×E 种子的平均成苗率最高，达 33.32%，最低的是 T×E，杂交子代平均成苗率为 0，E×C 与 E×T 的平均发芽率为 19.78%和 14.17%，M×E、M×T、M×C、T×C、T×M 的平均发芽率均小于 10%。与相对应平均发芽率的高低水平相一致。E×T、E×C 与 C×T 中个别杂交组合发芽率与成苗率的最大值明显大于相应半同胞对照两指标的最大值，原因可能是种间杂交杂种优势在杂交松苗期的逐步表现。

表 5 不同种间杂交类型子代各项指标平均值与变异幅度

Tab 5 Mean and amplitude of variation of each indicator

杂交类型 Type of hybridization	平均球果产种数与变幅 ANSP and amplitude of variation(粒/个)	平均球果产种量与变幅 AWSP and amplitude of variation(g·kg^{-1})	百粒重与变幅 SW and amplitude of variation(g)	发芽率与变幅 GR and amplitude of variation(%)	成苗率与变幅 SR and amplitude of variation(%)
马尾松×火炬松 *P. massoniana*×*P. taeda*	2.5(0～11.8)c	2.53(0～14.29)c	0.72(0.45～1.13)c	8.86%(0～46.86%)c	3.73%(0～37.66%)c
火炬松×马尾松 *P. taeda*×*P. massoniana*	1.4(0～7.8)c	3.39(0～29.05)c	1.86(1.46～2.87)b	6.48%(0～24.33%)c	2.04%(0～18.37%)c
湿地松×火炬松 *P. elliottii* ×*P. taeda*	21.6(2.0～78.5)b	15.41(2.14～71.93)c	2.60(1.29～4.03)a	22.86%(1%～77.67%)b	14.17%(0～65.70%)ab
火炬松×湿地松 *P. taeda*×*P. elliottii*	1.0(0～4.3)c	1.37(0.99～6.02)c	2.07(1.67～2.16)b	0c	0c
湿地松×加勒比松 *P. elliottii*×*P. caribaea*	30.2(1.0～103.4)b	19.97(0.44～53.89)c	2.55(1.04～3.70)a	23.82%(11.0%0～78.67%)b	19.78%(0～70.90%)ab
加勒比松×湿地松	59.7(31.9～	34.29(24.81～	1.24(0.94～	41.95%(10.00%～	33.32%(0～

P. caribaea×P. elliottii	78.5)a	45.30)a	1.52)c	89.33%)a	87.20%)a
马尾松×湿地松 P. massoniana×P. elliottii	4.4(1.2～11.6)c	2.95(0.38～5.15)c	0.67(0.58～0.91)a	7.86% (0～20.99%)c	2.6%(0～14.93%)c
马尾松×加勒比松 P. massoniana×P. caribaea	1.5(0～4.8)c	2.12(0～7.92)c	2.26(0.50～5.78)c	12.71% (0～49.33%)c	6.82%(0～40.91%)bc
火炬松×加勒比松 P. taeda×P. caribaea	1.1(0.3～2.0)c	1.95(0～6.06)c	1.95(1.69～2.23)b	7.72%(0～29.00%)c	6.25%(0～25.00%)bc

注：同一列不同英文字母表示差异显著(P＜0.05)。

Note：The different letters within the same column mean the significance at the 0. 05 level.

与半同胞对照比较，C×E 与 E×C 杂交子代的平均球果产种数与平均球果产种量优于加勒比松半同胞；T×M 杂交子代的平均百粒重优于马尾松半同胞子代对照（表 6）。原因可能是杂种优势在杂交子代生长过程中的初步表现。半同胞子代的发芽率与成苗率均高于相应的种间杂交子代。在不同种间杂交类型之间，对杂交子代平均球果产种数，平均球果产种量，百粒重，发芽率与成苗率 5 项育性指标进行方差分析均有极显著差异（表 7），表明种间杂交育种是创造变异的一种可靠手段，系统研究不同松树种间杂交可育性对于杂交工作中的亲本选择和杂交优势的评估利用是非常必要的。

在本试验所有种间杂交类型中，依据 5 项育性指标，以湿地松与加勒比松为母本的三种杂交组合育性表现总体水平明显优于马尾松与火炬松为母本的六种杂交组合。说明在松树种间杂交中，亲本种不同，亲本配合力有很大差别，杂交子代在球果，种子，苗期的生长表现也存在很大差异。不同松树进行种间杂交，育性指标的变异幅度最大值一定程度上从表型性状体现出种期与苗期时的杂种优势。由表 5 与表 6，对比半同胞对照，E×T、E×C 与 C×E 个别组合在种期与苗期都表现出一定的杂种优势；M×C 的百粒重变异幅度极大值也高于其半同胞对照，说明 M×C 杂交子代中个别组合在种子质量上表现出杂种优势。

表 6 半同胞对照可育性指标平均值与变异幅度

Tab 6　Mean and amplitude of variation of each fertile indicator of half-sib contrast

种子类型 Type of seed	平均球果产种数与变幅 ANSP and amplitude of variation(粒/个)	平均球果产种量与变幅 AWSP and amplitude of variation($g·kg^{-1}$)	百粒重与变幅 SW and amplitude of variation(g)	发芽率与变幅 GR and amplitude of variation(%)	成苗率与变幅 SR and amplitude of variation(%)
马尾松 P. massoniana	50.8(24.6～72.1)	32.23(25.18～46.14)	0.97(0.76～1.15)	54.05%(20.00%～82.00%)	47.80%(16.90%～70.90%)
湿地松 P. elliottii	84.8(76.0～96.8)	56.56(52.11～63.74)	2.90(2.33～3.26)	50.00%(41.00%～57.00%)	45.10%(36.70%～50.20%)

加勒比松 *P. caribaea*	29.1(21.7～38.7)	14.53(11.03～18.50)	2.18(1.92～2.52)	50.42%(41.00%～64.00%)	45.20%(36.50%～57.00%)
火炬松 *P. taeda*	22.1(18.8～25.4)	35.67(33.84～37.49)	2.66(2.57～2..78)	24.25%(20.00%～27.00%)	18.10%(17.40%～18.80%)

表 7 不同种间杂交类型方差分析

Tab 7 Analysis of variance of different types of interspecific hybridization

性状指标 Trait index	均值 Mean	平方和 Sun of squares	自由度 DF	均方值 Mean square	*F*	显著性 Significance
ANSP	20.13	25197.99	8	3149.75	10.32	0.000
AWSP	14.11	9519.54	8	1189.94	8.69	0.000
SW	2.29	95.43	8	11.93	21.59	0.000
GR	0.17	4.21	8	0.53	13.55	0.000
SR	0.14	0.83	8	0.10	3.26	0.003

对不同松树种间杂交 5 项育性指标进行相关性分析，结果表明（表 8）：总体上，松树种间杂交 5 项育性指标之间存在正相关性。平均球果产种数与百粒重存在显著正相关性，与平均球果产种量、发芽率、成苗率存在极显著正相关；平均球果产种量与百粒重、发芽率、成苗率存在极显著正相关；百粒重与发芽率、成苗率极显著正相关；发芽率与成苗率存在极显著正相关。

表 8 不同松树种间杂交可育性指标相关系数

Tab 8 Correlation coefficient of fertility index in interspecific hybridization of different pine trees

性状指标 Trait index	ANSP	AWSP	SW	GR	SR
ANSP	1				
AWSP	.895**	1			
SW	.264*	.399**	1		
GR	.504**	.535**	.345**	1	
SR	.485**	.533**	.374**	.968**	1

注：*和**分别表示 p 在 0.05 和 0.01 水平上差异有统计学意义。

Note：“*” and “**” showed that p is statistically significant at the 0.05 level and 0.01 level.

2.3 不同松树种间杂交类型可育性综合评价

对 9 种不同松树种间杂交类型进行可育性综合评价（表 9），利用平均球果产种数，平均球果产种量，百粒重，发芽率与成苗率这 5 项指标进行综合评价，结果发现，9 种不同松

树种间杂交类型可育性由优到劣依次为 C×E、E×C、E×T、T×C、T×E、M×E、M×C、M×T、T×M。亚组内杂交的育性表现明显优于亚组间杂交；湿地松与加勒比松为母本的三种杂交组合育性表现总体水平明显优于马尾松与火炬松为母本的另外六种杂交组合。

表 9 不同松树种间杂交可育性各指标隶属函数值

Tab 9 Membership function values of various indexes of interspecific hybrid fertility of different pine trees

种子类型 Type of seed	ANSP	AWSP	SW	GR	SR	隶属函数值 Membership function value
马尾松×火炬松 *P. massoniana*×*P. taeda*	0.232	0.193	0.403	0.113	0.108	0.210
火炬松×马尾松 *P. taeda*×*P. massoniana*	0.179	0.175	0.340	0.167	0.167	0.206
湿地松×火炬松 *P. elliottii* ×*P. taeda*	0.371	0.330	0.452	0.318	0.334	0.361
火炬松×湿地松 *P. taeda*×*P. elliottii*	0.498	0.469	0.526	0.000	0.000	0.299
湿地松×加勒比 *P. elliottii*×*P. caribaea*	0.320	0.384	0.529	0.295	0.294	0.365
加勒比松×湿地松 *P. caribaea*×*P. elliottii*	0.596	0.463	0.522	0.359	0.336	0.455
马尾松×湿地松 *P. massoniana*×*P. elliottii*	0.366	0.239	0.479	0.205	0.199	0.298
马尾松×加勒比松 *P. massoniana*×*P. caribaea*	0.370	0.321	0.313	0.200	0.200	0.281
火炬松×加勒比松 *P. taeda*×*P. caribaea*	0.423	0.321	0.486	0.250	0.250	0.346

3 讨论

3.1 不同松树种间杂交育性分析

种间杂交研究重要的科学价值体现在突破生殖隔离障碍，获得具有生活力的子代，进而寻找具有杂种优势的子代。9 种杂交类型中除 T×E 外，均获得了具有生活力的杂交子代，尤其马尾松与 3 种国外松的杂交子代在同类相关研究中是首次获得，对进一步研究松树种间杂交杂种优势具有重要意义。松树进化史研究与其系统发育关系密不可分，在 Price（1998）提出的松属内种的分类中，加勒比松、湿地松与火炬松同属一个亚组（*Australes*），马尾松属另一个亚组（*Pinus*），相同亚组内的种亲缘关系最近。泝香香（2011）利用 5 对 SSR 引物获得的 41 个种间多态性位点，构建的 10 个松树近缘种亲缘关系与传统的研究结果基本一致。本试验把 9 种杂交类型分成亚组间杂交与亚组内杂交，分析得出：亚组内杂交其子代在

球果，种子与苗期的整体表现要明显优于亚组间杂交，说明亲本间亲缘关系的远近通过影响亲本配合力，进一步影响杂交子代在球果、种子与苗期三阶段的整体表现。

杂交松种子质量的好坏与其成苗率的高低是杂交松推广造林的主要限制因素，通过系统研究杂交松球果、种子与苗期三阶段表现的内在联系具有重要意义。对不同松树种间杂交 5 项育性指标进行相关性分析，研究发现除平均球果产种数与百粒重成显著正相关以外，其余均为极显著正相关。结果表明松树种间杂交子代球果、种子与苗期三阶段紧密联系，球果产种情况影响着杂交种的质量，杂交种子的质量进一步影响播种后的发芽情况和成苗情况，所以合理的亲本选配是进行松树杂交育种研究的重要保障，也是杂交松育苗与推广的重要前提。不同松树种间杂交育性表现与杂交组合、母本都有很大的关系，在本试验中，湿地松与加勒比松为母本的三种杂交组合，其育性表现总体水平明显优于马尾松与火炬松为母本的另外六种杂交组合。调查分析杂交子代球果产种情况（平均球果产种量与平均球果产种率）、种子质量（百粒重）、发芽率、成苗率以及育苗环境对种苗生产的影响，对杂交松种苗生产和造林安排具有重要的指导意义。总的来说，松树进行种间杂交，产种数量较少，效率较低，成苗率不高，通过探究不同松树种间杂交育性表现为亲本选配提供依据，会更好地解决杂交松推广造林的瓶颈问题（潘志刚等, 1999）。

3.2 影响不同松树种间杂交育性高低的主要原因

探究不同松树种间杂交类型的可育性是高效选配杂交亲本的重要前提，与松树种内杂交结实相比，从花粉萌发、生长到果实成熟及杂交子代的生长、发育，种间杂交都可能面临一些困难。根据松树种间杂交的过程，一般将其分为以下几个方面：受精前不亲和、受精后染色体配对障碍和受精后杂种胚败育及不育（赵罕等，2016）。

在试验中，M×E、M×T、M×C、T×C、T×E 与 T×M 的杂交子代平均球果产种数较少，平均球果产种量较低可能是种间杂交受精前不亲和或者是受精后染色体配对障碍等原因造成的。杂交不亲和还会使种子发育参差不齐，相同的杂交组合其子代出现种子大小差异很大和百粒重变异幅度很大的情况，例如 M×C 和 E×T。松树种间杂交受精前不亲和主要表现为花粉萌发障碍和花粉管生长障碍。研究表明，远缘杂交时植物花粉到达柱头之后，柱头乳突细胞会大量积累胼胝质，从而形成一种对远缘花粉的拒绝反应，反应强度主要与亲本间亲缘关系的远近有关，产生这一现象的原因及遗传机制较为复杂，目前还没有定论（刘焕芳等，2004）。远缘花粉的花粉管无法有效地被花柱引导组织识别，进而缺乏所需的营养物质（齐秀娟，2013）。远缘杂交不亲和性与各种氧化酶活性有关，特别是柱头特异蛋白与绒毡层合成的特异蛋白之间相互识别的结果（Pollegioni et al.，2013）。同源染色体的正常配对是杂交成功的基础。在远缘杂交中，双亲染色体融合时，雌雄配子亲缘关系的差异可能会导致染色体行为异常。在有些远缘杂交中，精子能够进入胚囊并且在卵细胞质中解体，但解体后却能刺激卵细胞产生单倍体的胚，然而在有些情况下受精过程虽然完成，但是受精卵会出现染色体消除或染色体消减的现象（康向阳，2003）。在之后的分裂过程中亲本的染色体会逐渐丢失或是部分丢失，形成单倍体或者是形成一个亲本的单倍体与另一个亲本一至多条染色体共存的杂交子代（Wang et al.，2009）。由于远缘杂交在受精之前双亲染色体分别被单独的核包围，还有一种情况，受精后一些形态差别较大的染色体在空间上分开排列，甚至独立进行分裂，形成兼有雄核与雌核的嵌合体胚（李再云等，2005）。这种情况所产生的杂交子代通常包含了来自双亲不同的染色体组，在减数分裂中染色体无法正常配对和分离，导致育性降低或高度不育。

发芽率与成苗率低主要是因为种间杂交受精后杂种胚败育及不育，例如 M×E、M×T、T×E 与 T×M，尤其是 T×E。在进行远缘杂交时，由于会受到外来基因组的干预，在胚形成到成熟的一系列过程中都存在着一些不协调的因素，阻碍其正常的生长发育，主要表现为受精不完全、胚胎不发育等，普遍认为核质互作不平衡、染色体不平衡与基因不平衡是导致这

一现象的主要原因（Chen et al.，2008）。也有观点认为，胚无法正常发育的原因是母体组织发育时的异常增生使胚和胚乳失去了发育空间，进而相继败育。还有一些观点认为，杂种胚在发育过程中缺乏某些必需的化学物质或者是整个过程中某些物质浓度的改变都会导致幼胚死亡（赵罕等，2016）。

种间杂交在林业上取得了很大的进展，无论是用材林还是经济林都培育出了很多优良品种，这也使人们看到了种间杂交育种发展的广阔前景，因此种间杂交育种机遇与挑战并存。随着现代生物技术的不断发展与试验手段的不断进步，松树种间杂交育种应该更能展示出其种质创新、拓宽遗传资源的优势。然而由于远缘杂交不亲和的原因极其复杂，种间杂交的遗传机制目前尚未明确。探究松树种间杂交过程中各个阶段的发育机理，使杂交子代既保持双亲的杂交优势，又不至于被繁殖隔离机制所限制，需要付出我们巨大的努力。

4 结论

综合松树种间杂交与半同胞对照子代平均球果产种数，平均球果产种量，百粒重，发芽率与成苗率 5 项可育性指标，C×E、E×C 与 E×T，三种杂交类型育性表现优于或接近半同胞对照，育性较好。M×E、M×T、M×C、T×C、T×E 与 T×M 的杂交类型育性表现远低于半同胞对照，表现出低育性甚至不育。亚组内杂交育性的整体表现明显优于亚组间杂交；湿地松与加勒比松为母本的三种杂交组合育性表现总体水平明显优于马尾松与火炬松为母本的另外六种杂交组合。9 种杂交类型中除 T×E 外，均获得了具有生活力的杂交子代，尤其马尾松与 3 种国外松的杂交子代在相关研究中是首次获得，对松树种间杂交育种的进一步研究具有重要意义。

参考文献：

CHEN JJ, DING JH, OUYANG YD, et al. , 2008. A triallelic system of S5 is a major regulator of the reproductive barrier and compatibility of indica-japonica hybrids in rice[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 105(32): 11436-41.

CHENG X, CHEN SM, CHEN FD, et al. , 2011. Creating novel chrysanthemum germplasm via interspecific hybridization and backcrossing[J]. Euphytica, 177(1): 45-53.

COOPERATION GROUP ON PROVENANCE TEST OF SOUTHERN PINE, 1985. Seedling experiment of *Pinus elliottii* provenance[J]. J Nanjing For Univ (Nat Sci Ed) , 1985(01): 44-51. [南方松种源试验协作小组, 1985. 湿地松种源苗期试验[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 1985(01): 44-51.]

FENG YH, LI HG, YANG ZQ, et al. , 2019. Analysis of genetic diversity and variation of growth traits of three superior provenances of *Pinus massoniana* (masson pine) in Guangxi[J]. J Nanjing For Univ (Nat Sci Ed) , 43(6):67-72. [冯源恒,李火根,杨章旗, 等, 2019.广西马尾松三个优良种源的遗传多样性及生长性状变异分析[J].南京林业大学学报(自然科学版), 43(6):67-72.

FU XX, ZHAO H, WANG Y, 2011. Species identification and genetic relationship assessment of Pinus (Sect. Pinus) related species based on morphological and molecular markers[J]. Sci Silv Sin, 47(10): 51-58.[洑香香, 赵虎, 王玉. 2011.松属近缘种形态和分子鉴定及其亲缘关系探讨[J]. 林业科学, 47(10): 51-58.]

KANG XY, 2003. Advances in researches on polyploid breeding of forest trees[J]. J Beijing For Univ, 2003(04): 70-74. [康向阳. 2003. 林木多倍体育种研究进展[J]. 北京林业大学学报, 2003(04): 70-74.]

LI GQ, LI HF, ZHANG HY, et al. , 2007. Comprehensive evaluation of flowering-podding period drought resistance of soybean[J]. Chin J Eco-Agric, 2007(6) : 96-100. [李贵全,李慧峰,张海燕，等, 2007.大豆花荚期抗旱性的鉴定与综合评价[J]. 中国生态农业学报, 2007(6) : 96-100.]

LI ZY, HUA YW, GE XH, et al. , 2005. Chromosomal behaviors in plant wide hybridizations and their genetic and evolutionary implications[J]. Hereditas, 2005(02): 146-155. [李再云，华玉伟，葛贤宏，等, 2005.植物远缘杂交中的染色体行为及其遗传与进化意义[J]. 遗传, 2005(02): 146-155.]

LIU HF, CHEN XS, DUAN CG, et al. , 2004. Embryo rescue and identification of hybrids between Sweet Cherry and Chinese Cherry[J]. Acta Hortic Sin, 31(3): 303-308. [刘焕芳，陈学森，段成国，等, 2004. 甜樱桃与中国樱桃杂种的胚抢救及杂种鉴定[J]. 园艺学报, 31(3): 303-308.]

LUAN QF, JIANG JM, ZHANG JZ, et al. , 2011. Estimation of heritability and combining ability for growth， stem-straightness and wood density of the F1 generation of *Pinus taeda* × *P. caribaea*[J]. Sci Silv Sin, 47(3): 178-183. [栾启福，姜景民，张建忠，等, 2011. 火炬松×加勒比松 F1 代生长、树干通直度和基本密度遗传和配合力分析[J]. 林业科学, 47(3): 178-183.]

MAO JF, LI Y, LIU YJ, et al. , 2007. Cone and seed characteristics of *Pinus densata* and their adaptive fitness implications[J]. Chin J Plant Ecol, 31(02):291-299. [毛建丰,李悦,刘玉军，等, 2007.高山松种实性状与生殖适应性[J]. 植物生态学报,31(02):291-299.]

PAN ZG, GUAN N, WEI SH, et al. , 1999. Research on the growth, wood properties of hybrid pine in South China[J]. Forest Research, 12(04):398-402. [潘志刚，管宁，韦善华，等, 1999. 我国南方杂交松生长和材性的研究[J]. 林业科学研究, 12(04): 398-402.]

PAOLA P, IRENE O, KEITH E. W, et al. , 2013. Barriers to interspecific hybridization between Juglans nigra L. and J. regia L species[J]. Tree Genet Genomes, 9(1): 291-305.

PRICE, R., LISTON, A.AND STRAUSS, S, 1998. Phylogeny and systematic of Pinus[M]. Cambridge: Cambridge University Press: 49-68.

QI XJ, 2013. Study on physiological characteristics and differential proteomics of pollination and fertilization in ‘Tianyuanhong’ kiwifruit[D]. Nanjing Agricultural University. [齐秀娟, 2013. ‘天源红’猕猴桃授粉受精生理特性及其相关差异蛋白质组学研究[D]. 南京农业大学.]

WANG HZ, MA J, LI XY et al. , 2005. Screening identification indexes of drought resistance at flowering stage in rice[J]. Acta Agronom Sin, 31(11):101-105. [王贺正,马均,李旭毅，等, 2005.水稻开花期抗旱性鉴定指标的筛选[J]. 作物学报, 31(11):101-105.]

WANG J, HUANG L, BAO MZ, et al. , 2009. Production of interspecific hybrids between Lilium longiflorum and L. lophophorum var. linearifolium via ovule culture at early stage[J]. Euphytica, 167(1): 45-55.

XU YM, LIN H, ZHANG ZW, et al. , 2005. Variation in crushing strength parallel to the grain of wood for provenances of exotic Loblolly Pine and its relationships with tree age, wood density and late wood percentage[J]. J Northeast For Univ, 33(4): 19-22. [徐有明，林汉，张卓文，等, 2005. 火炬松种源顺纹抗压强度变异及与树龄、晚材率、木材密度相关分析[J]. 东北林业大学学报, 33(4): 19-22.]

YAN QC, 2001. Seed science[M]. Beijing: China Agriculture Press: 112-118. [颜启传. 2001. 种子学[M]. 北京：中国农业出版社: 112-118.]

ZENG XP, ZHAO P, PENG SL, et al. , 1999. Physioecological characteristics of three species of

pine[J]. Chin J Appl Ecol, 1999(03): 20-23. [曾小平, 赵平, 彭少麟, 等, 1999. 三种松树的生理生态学特性研究[J]. 应用生态学报, 1999(03): 20-23.]
ZHANG ZM, WAN SB, DAI LX, et al. , 2011. Estimating and screening of drought resistance indexes of peanut[J]. Chin J Plant Ecol, 35(1): 100-109. [张智猛, 万书波, 戴良香, 等, 2011. 花生抗旱性鉴定指标的筛选与评价[J]. 植物生态学报, 35(1): 100-109.]
ZHAO H, ZHU GP, DI AM, et al. , 2016. Research progress in distant hybridization in tree breeding[J]. World For Res, 29(2): 28-32. [赵罕, 朱高浦, 狄爱民, 等, 2016.林木远缘杂交育种现状及研究进展[J]. 世界林业研究, 29(2): 28-32.]